

**Japanese Publication for Patent No. 21519/1973**  
**(Shou 48-21519)**

*The following is a partial English translation of exemplary portions of non-English language information that may be relevant to the issue of patentability of the claims of the present application.*

The present invention provides an economical and industrially advantageous method of producing the coenzyme Q. More specifically, the present invention provides a method of producing the coenzyme Q, the method comprising incubating *Rhodopseudomonas capsulatus* aerobically in a medium whose carbon source is hydrocarbon, which is available in a large quantity at low cost, producing the coenzyme Q in cells of *Rhodopseudomonas capsulatus*, accumulating the coenzyme Q in the cells to a significant amount, and extracting the coenzyme Q with an organic solvent from the cells.

⑪特許出願公告  
昭48-21519

# 特許公報

④公告 昭和48年(1973)6月29日

発明の数 1

(全 4 頁)

1

#### ⑤④ コエンチーム Q の製造法

②特 願 昭 4 5 - 1 0 7 9 6 9

②出 願 昭 4 5 ( 1 9 7 0 ) 1 2 月 4 日

⑦<sup>2</sup> 発 明 者 持田晃一

郷屋川市東香里園町 8 の 1 0

同 大崎孝雄

大崎幸雄

京都府船井郡丹波町大字水戸小字  
六呂 5 の 1

同 小林達治

小林達治

京都市左京区浄土寺真如町 1 3 7

同 木村隆一

木村隆一

京都市北区大宮上岸町 6 6

⑦①出願人 財団法人生産開発科学研究所

京都市左京区下鴨森本町 15

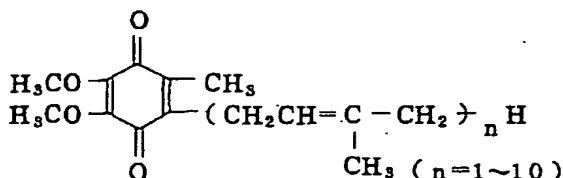
### 図面の簡単な説明

第1図は本発明方法により得たコエンチームQ<sub>10</sub>の紫外線吸収スペクトルを示すものであり、第2図は同じ赤外部吸収スペクトルを示すものである。

## 発明の詳細な説明

本発明は微生物を利用してコエンチームQを製造する方法に関するものである。

コエンザイムQ (Coenzyme Q) は生体内における酸化リン酸化電子伝達系に極めて重要な役割をしているキノン類であつて、下記の一般式で示される公知化合物であり、キノン核の6位にイソブレン側鎖をもつ2・3-ジメトキシ-5-メチル-1・4-ベンゾキノンの総称で、イソブレン単位の数によりコエンザイム  $Q_1 \sim Q_{10}$  が存在する。



天然におけるコエンチームQの存在は多くの動植物や微生物に知られているが必ずしも普遍的でなく、また含有量も極めて微量であり、その抽出に当つての収率も極めて低いものであり、また合成法による製造も試みられているが複雑な工程と操作を要する為に製造コストが極めて高くつき、企業的に採算のとれるものでは未だ出現していない。従つて、これまでは安価に多量のコエンチームQを生産することは困難であつた。

10 本発明は、上記コエンチームQを経済的かつ工業的に有利に製造する方法を提供せんとするものであり、詳しくは大量かつ安価に得られる炭化水素を炭素源とする培地にロドシユウモナス・キャプスレータス (*Rhodospseudomonas capsulatus*) 15 を好気的条件下に培養し、当該菌体内に著量のコエンチームQを生成蓄積せしめ、しかる後有機溶媒によつてこれを抽出分離することによりコエンチームQを得る方法である。

先ず本発明方法に用いるロドシユードモナス・キャプスレータスについてその性質の概要及び菌学的性質について述べる。すなわちロドシユードモナス・キャプスレータスはアチオロダーシエ (A thiorhodaceae、紅色無硫黄細菌) 科に属し、本発明者等の研究によれば熱帯、亜熱帯のほとんどの溜水状態の場所、例えば水田、溝、下水、河川、湖、海、温泉などに生存している。

### (a) 形態的特徵

一本の鞭毛を有し、極めて運動性に富む、普通は短桿状菌（幅  $0.5 \mu$  × 長さ  $1.0 \mu$ ）であるが、培養液の種類、培養期間によつては長桿状菌（幅  $0.5 \sim 0.7 \mu$  × 長さ  $6.0 \mu$ ）のものも出てくる。即ち多形現象を示す。

### (b) 生育条件

各種培地における生育状態（嫌氣的照明条件下）

35	肉汁	+
	ペプトン水	+++
	馬鈴薯培地	-

3

4

チオサルフェート(Thiosulfate)	—
マラニン	+
ロイジン	—
アスパラギン	+
アスパラギン酸	—
グルタミン酸	+
酒石酸	—
クエン酸	—
グルタル酸	+
酢酸	+
プロピオン酸	++++
乳酸	++
コハク酸	+
リンゴ酸	+
酪酸	++
クロトン酸	+
ビルビン酸	++
エタノール	—
マンニトール(Mannitol)	—
ソルビトール	—
ブドウ糖	+
マンノース	—
果糖	+
グリセロール	—

(註) いずれも基質について0.2%濃度  
使用

+++ 生育良好  
+ 生育可能  
— 生育不可能

## (c) 生理的性質

## (1) 最適生育条件

pH 7.2、温度27℃、嫌氣的照明  
(10000 lux)

## (2) 生育しうる条件

pH 6.0~8.5、温度23~39℃、好気  
~嫌気、暗黒条件~照明条件

## (3) グラム染色法

陰性

## (4) 抗酸性

あり

## (5) インドールの生成

なし

## (6) 硫化水素の生成

なし

## (7) 窒素ガスを固定する能力

あり

## (8) カタラーゼの生成

あり

## 5 (9) セラチンの液化

なし

## 10 (10) 澱粉の加水分解

なし

## 10 (11) 還元剤メチレンブルー、還元型メチル(又はベンジル)バイオロジエン色素の酸化能力

あり

## (12) ビオチン、チアミン、ニコチン酸を生長因子として要求する。

以上の菌学的性質をバージェイ・マニユアル・

15 オブ・デイターミネイティブ・バクテリオロジー第7版の記載と対照するとアチオロダシエ科のロドシユードモナス属キヤブスレータス種と同定される。

次に本発明方法においては上記の菌株を炭化水素類を炭素源とし、その他該菌の生育に必要な栄養素を含有する培地で好気条件下に培養する。この時培地の形態は一般に液体培地によるのが有利である。液体培地による培養にあつては振とう培養、攪拌培養などのいずれで行なつてもよいが、25 いわゆる深部通気培養によるのが工業的にもつとも有利である。

培地は炭素源として炭化水素類を含有させたものが使用される。炭化水素類としては、たとえばヘキサン、ドデカン、テトラデカン、オクタデカ

30 ン、n-パラフィン混合物、ケロシン、灯油などの脂肪族炭化水素類が用いられる。これらの炭化水素類はほとんど水に溶解しないから液体培地に添加するに際しては培地水溶液と激しく攪拌して細密なけんだく液としたり、適当なけんだく助剤、35 溶解助剤を添加するのがよい。

窒素源としては、たとえばアンモニウム塩類などの無機窒素化合物、コーシスチープリカー、ペプトン、カゼイン、酵母エキスなどの有機窒素含有物などが用いられる。その他カリウム塩、ナトリウム塩、カルシウム塩、マグネシウム塩、リン酸塩、硫酸塩などの無機塩及びニュチン酸、チアミン、ビオチンなどのビタミン類を生長因子として極微量添加する。

上記の培地に前記したロドシユードモナス・キ

5

ヤブスレータスを接種して初発 pH 7 付近、27 ~ 30℃ で 72 ~ 120 時間振とう培養又は通気攪拌培養などの好気条件下に培養すると培養の経過と共にコエンチーム Q が菌体内に生成蓄積される。

上述の如くして大量に培養したロドシユードモナス・キャブスレータスからコエンチーム Q を抽出するには菌体を連続式遠心分離機（例えばシャープレス・タイプのもの）を用いて集菌し、水分約 80% の菌体濃縮物（湿菌）とした後、これをいつたん抗酸化剤の存在下でケン化後、又は直後に、有機溶媒例えばクロロホルム、エーテル、石油エーテル、ヘキサン、シクロヘキサン、イソオクタンなどによつて処理すれば目的物コエンチーム Q は抽出され、有機溶媒を除去すれば黄色を呈した粗製コエンチーム Q を得ることができる。またメタノール、エタノールなどの極性溶媒で抽出した後、さらに上記無極性溶媒で再抽出を行なえば収率を上げることができる。なお、抽出処理における有機溶媒の量、攪拌時間等は溶媒の種類、温度などにより、適宜選択されることは当然である。

このようにして得られた粗製コエンチーム Q はアルミナ、ケイ酸、ケイ酸マグネシウム、ケイ酸アルミニウム等の吸着剤を用いたカラムクロマトグラフィーあるいは薄層クロマトグラフィーなどによつて精製すれば赤外吸収スペクトル、紫外吸収スペクトルなどによりコエンチーム Q の標品と一致する精製コエンチーム Q を得ることができる。

以上の如き構成の本発明方法によれば、安価な培養基を用いて、容易に、収率よく多量のコエンチーム Q を製造することができる。次に本発明の詳細を実施例により説明する。

#### 実施例 1

n-テトラデカン 20 ml、酢酸アンモニウム 5 g、リン酸第一カリウム 1 g、硫酸マグネシウム 0.2 g、塩化ナトリウム 0.1 g、塩化カルシウム 0.05 g、炭酸水素ナトリウム 0.5 g、酵母エキス 0.5 g および水道水 1 l からなる培地（pH 7.0 に調整）を 10 l 容のジャー・フアーメンタ

6

スレータス菌株（微工研菌寄第 879 号）をあらかじめ 27℃、72 時間 5000 lux の照明下で嫌氣的に培養して得た前培養液 1 l を接種し 30℃、500 r.p.m. 400% / 分通気で 120 時間培養した。培養終了後この培養液より常法に従い遠心分離して菌体を取り出し、12 g の湿菌（水分 80% 含有）が得られた。ここに得られた湿菌を凍結、融解し、メタノール：クロロホルム（1：1）混液で抽出を繰り返した後、水を加えて振とうし、水層の部分を除くして、クロロホルム層は濃縮した。次いで濃縮物はヘプタンに溶解し、ケイ酸を充填したカラムに吸着させた後ヘプタン：クロロホルム（1：1）混液で溶出し、コエンチーム Q の画分を得た。本画分を減圧下で蒸発乾固し、エタノールより再結して黄色のコエンチーム Q 5.2 mg を得た。そしてこのものは薄層クロマトグラフィー、紫外吸収スペクトル、赤外吸収スペクトルからコエンチーム Q<sub>10</sub> であることを確めた。なお、収量は乾燥菌体 1 kg 当り 2.1 g であつた。

#### 実施例 2

炭化水素として n-テトラデカンを n-パラフィン混合物（沸点 65 ~ 255℃）に代えて、実施例 1 と全く同様の方法によりロドシユードモナス・キャブスレータス（微工研菌寄第 879 号）を培養し、培地 1 l 当り 1.6 g の湿菌（水分 80% 含有）を得た。そして菌体を実施例 1 と同様に処理したところ湿菌 1 g 当り 0.36 mg のコエンチーム Q<sub>10</sub> が黄色板状結晶で得られた。

なお収量は乾燥菌体 1 kg 当り 1.8 g に相当した。

#### 実施例 3

炭化水素としてケロシンを用い、実施例 1 と同様の方法によりロドシユードモナス・キャブスレータス（微工研菌寄第 879 号）を培養し、培地 1 l 当り 1.4 g の湿菌（水分 80% 含有）を得た。この菌体を実施例 1 と同様の方法で処理を行なつたところ、湿菌 1 g 当り 0.3 mg のコエンチーム Q<sub>10</sub> が得られた。これは乾燥菌体 1 kg 当り 1.5 g に相当する。

#### ⑤特許請求の範囲

1 炭素源として炭化水素を含有する栄養培地に、ロドシユードモナス・キャブスレータス（*Rhodopseudomonas capsulatus*）を培養して菌体にコエンチーム Q（Coenzyme Q）を蓄積させ、これ

7

8

を単離することを特徴とするコエンチームQの製造法。

図 1

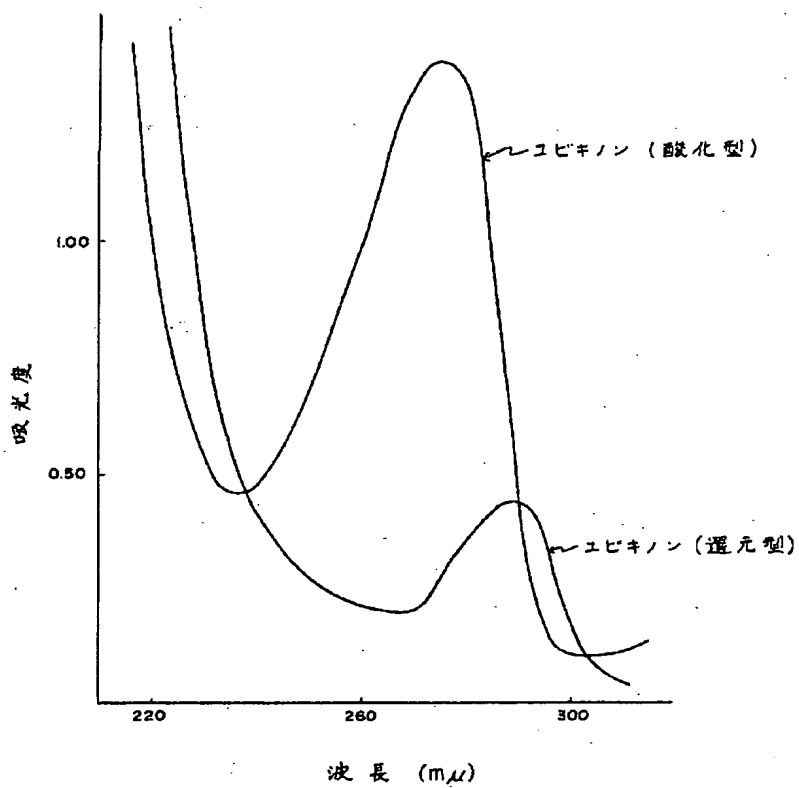


図 2

